

Н.Я.Головенко, акад. АМН України, Е.В.Преподобная

ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГИДАЗЕПАМА И ЕГО МЕТАБОЛИТОВ

Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины, г.Одесса

Транквилизаторы являются одной из важнейших групп психотропных средств. Сегодня насчитывается более 100 таких препаратов, продолжается их активный поиск и совершенствование. Только в наиболее популярном ряду производных 1,4-бенздиазепинов синтезировано более 4 тыс. соединений, из которых более 40 используются в клинической практике. Один из них — гидазепам, сочетающий отчетливое анксиолитическое действие с активизирующим и антидепрессивным эффектом, при малой выраженности побочных явлений и низкой токсичности, не обладающий снотворной активностью. Такое сочетание фармако-терапевтических свойств позволяет отнести препарат к "дневным транквилизаторам" [1].

Для гидазепама отмечена зависимость фармакологического эффекта от фармакокинетических показателей (всасывание, распределение, метаболизм, экскреция) [2]. Однако роль отдельных метаболитов в общей картине фармако-токсикологических свойств препарата не изучена.

Цель настоящей работы — установить величины (ED_{50}) противосудорожного действия гидазепама и его метаболитов на модели коразолового теста и очаговой эпилепсии, вызванной аппликацией коразола на кору головного мозга и определить среднюю летальную дозу гидазепама и его метаболитов, установить вклад каждого метаболита в общую картину фармако-токсикологических свойств гидазепама.

Материалы и методы

Противосудорожную активность гидазепама и его метаболитов по антагонизму к коразолу (коразоловый тест, ED_{50}) [3] изучали на 60 нелинейных белых мышах массой 18-25 г, разделенных на группы по 6 жи-

вотных. Мышам внутрибрюшинно вводили гидазепам или его метаболиты в дозах 0,16 - 1,5 мг/кг за 30 мин до подкожного введения коразола в дозе 125 мг/кг, вызывающей 95% токсическую экстензию (ТЭ) у мышей. Регистрацию ТЭ проводили в течение 1 ч. Для определения средней дозы эффекта (ED_{50}) использовали метод площадей Кербера.

Электроэнцефалографические исследования противосудорожного действия проводили в условиях острого эксперимента на 25 крысах линии Вистар массой 180-280 г, фиксированных в стереотаксическом аппарате [4]. Все подготовительные операции (фиксация животных в стереотаксическом аппарате, удаление мягких тканей дорсальной поверхности черепа, трепанация черепа, вскрытие твердой мозговой оболочки, установка корковых электродов) производили под эфирным наркозом. Опыты начинали через 0,5 - 1 ч после прекращения ингаляции эфира.

Для создания детерминантного (мощного) очага эпилептической активности на кору мозга апплицировали кусочки фильтровальной бумаги размером 1,0 x 1,0 мм, смоченные 1% раствором коразола. Зависимый очаг формировали аппликациями 0,1% раствором коразола. Расстояние между очагами комплекса составляло 4-5 мм. Это позволяло создавать эпилептический комплекс в пределах сенсомоторной коры крыс, что являлось важным фактором стандартизации условий при прове-

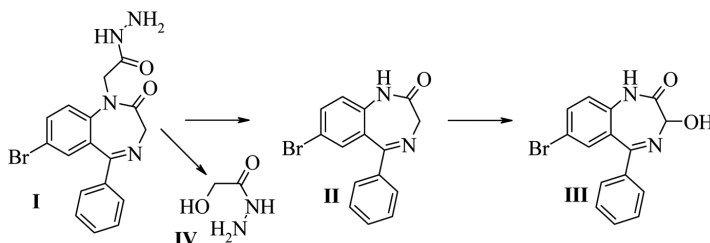
дении эксперимента [5]. Для регистрации потенциалов неокортекса активными электродами служили танталовые электроды. Судорожные корковые потенциалы отводили монополярно с поверхности центра эпилептических очагов. Индифферентный электрод крепили в носовых костях. Регистрацию биопотенциалов производили на чернилопишущем электроэнцефалографе ЭЭГП4-02. Для оценки судорожной активности в комплексах очагов изучали динамику амплитуды пиковых потенциалов и их частоту, количество пиковых потенциалов за 1 мин. Исследовали мощность корковых эпилептических комплексов, отражающих эпилептическую активность в определенные моменты времени и за весь период существования комплекса. Мощность (М) комплексов вычисляли как произведение частоты эпилептических разрядов на алгебраическую сумму средних амплитуд доминантного и зависимого очагов за 1 мин. Значения мощности выражали в условных единицах (у.е.).

Среднюю летальную дозу (тест на острую токсичность) определяли на 30 нелинейных белых мышах самцах массой 18 - 25 г, которые были поделены на 3 группы. Животным данной группы вводили перорально исследуемые вещества в дозах 2000 - 500 мг/кг. Регистрацию токсичности препаратов проводили в течение первых 24 часов после введения препаратов [5].

Расчет липофильности веществ ($\log P$) осуществляли с помощью программы CS ChemDraw.Pro.

Результаты и обсуждение

Ранее нами было показано [6], что гидазепам (I) в организме экспериментальных животных превращается в дезалкилгидазепам (II) с последующим C^3 -гидроксилированием до 3-оксидезалкилгидазепама (III). Параллельно образованию II, в реакции N^1 -деалкилирования стехиометрически отщепляется оксиацилтигидразид (IV):



Представленные в таблице результаты свидетельствуют, что на модели антикоразолового теста метаболиты гидазепама более активны по сравнению с исходным препаратом. Исследованные вещества образуют следующий ряд: II > III > I. Метаболит IV был не активным даже в дозе 2000 мг/кг.

получены следующие данные: амплитуда эпилептического очага составила $0,73 \pm 0,02$ мВ, а мощность на 25 мин эксперимента - $30,8 \pm 1,7$ усл. ед. (рисунок). Гидазепам оказывал противосудорожный эффект уже на 15 мин существования эпилептического очага.

Таблица

Фармако-токсикологические показатели гидазепама и его метаболитов

Вещество	log P	ED ₅₀ мг/кг	Антагонизм с коразолом, ED ₅₀ , мг/кг	Ki**, моль/л	AUC, мВ*
I	1,62	1700	0,36	2200 ± 76	$0,73 \pm 0,02$
II	3,01	600	0,11	$12,0 \pm 0,2$	$0,88 \pm 0,02$
III	3,35	933	0,25	$14,5 \pm 0,6$	$0,94 \pm 0,04$
IV	> 2000				

Примечания: * — значение площади под кривыми суммарной мощности эпилептического очага, вызванного аппликацией коразола при интрагастральном введении гидазепама и его метаболитов в дозе 7 мг/кг;

** — по данным [1]

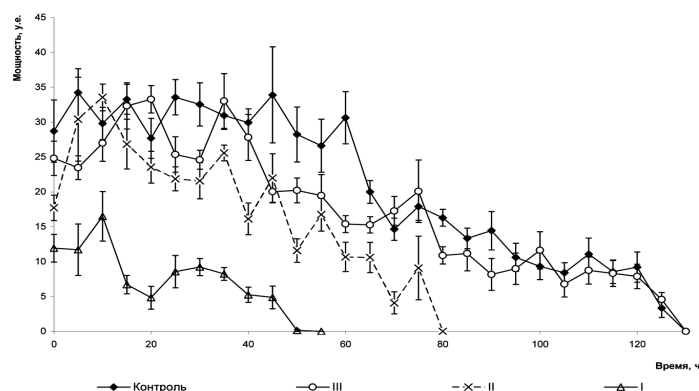


Рисунок. Динамика мощности эпилептического очага при интрагастральном введении гидазепама и его метаболитов в дозе 7 мг/кг

Энцефалографические исследования противосудорожного действия препаратов проводили в условиях острого эксперимента на 25 крысах, 5 групп по 5 животных в каждой. Первая группа животных являлась контрольной (вводили интрагастрально физиологический раствор за 30 мин до создания очага эпилептической активности). Очаг эпилептической активности создавали аппликациями коразола на кору головного мозга.

Животным второй группы интрагастрально вводили I в дозе 7 мг/кг до создания очага эпилептической активности. При этом были

Животным третьей группы вводили II тем же путем в дозе 7 мг/кг. Исследование противосудорожного действия данного метаболита выявило, что амплитуда составляет $0,88 \pm 0,02$ мВ, а мощность — $41,05 \pm 3,1$ усл. ед. ($P < 0,05$), при этом терапевтический эффект наблюдался на 10 мин существования очага. Вещество II снижало динамику мощности эпилептической активности в 1,3 раза ($P < 0,05$) и время существования очага до 90 мин, т.е. в 1,5 раза по сравнению с веществом I.

Животным четвертой группы тем же путем в той же дозе вводили III. В

случае интрагастрального введения вещества III амплитуда составляла $0,94 \pm 0,04$ мВ, а значение мощности - $34,96 \pm 2,7$ усл. ед. При этом выявлено достоверное ($P < 0,001$) снижение мощности эпилептической активности в 1,6 раза, а времени существования очага в 1,8 раза по сравнению с I.

Животным пятой группы при тех же условиях эксперимента вводили IV. В результате электроэнцефалографического исследования было установлено, что данное вещество не обладает противосудорожным действием на использованной модели.

Расчет значений площади под кривыми динамики суммарной мощности эпилептических очагов (методом трапеций) показал, что вещества III и II достоверно ($P < 0,001$) снижали мощность в 4,5 раза и 2,3 раза по сравнению с I (таблица).

Токсичность препаратов в некоторых случаях может быть обусловлена структурой и физико-химическими свойствами его метаболитов [7]. Можно было предположить, что метаболит IV, содержащий в своей структуре гидразиновый фрагмент, внесет определенный вклад в острую токсичность гидазепама. Основанием этому служит тот факт, что гидразины образуют реакционноспособные метаболиты - гидроксилмины, нитрозосоединения [8]. Однако, как показали наши исследования, это вещество не вызывало гибели экспериментальных животных в дозе более 2000 мг/кг.

Наиболее токсичным оказался метаболит II, а наименее сам гидазепам. Существует различное мнение [8] относительно роли определенных метаболитов в проявлении токсичности исходного лекарственного средства. В большинстве случаев они интерпретируются в рамках системы фармакокинетика/токсичность (ADME/tox) и описывается определенными дескрипторами (log P, молекулярная масса, число вращающихся связей и др.). Данные таблицы свидетельствуют о том, что с повышением значений log P токсичность исследуемых веществ увеличивается.

Наиболее интересные данные получены у метаболита II, у которого отмечается симбатность по отношению к I и III в обеих моделях. Его активность и токсичность к I составила 1:3, а к III - 1:2 (1,5).

Исходя из вышеизложенного, не исключено, что фармако-токсикологическое действие гидазепама может достигаться за счет метаболитов II и III. Об этом свидетельствуют данные [6] о том, что противосудорожное

действие гидазепама намного ниже, чем его метаболитов, несмотря на их низкую концентрацию в крови экспериментальных животных. В пользу такого заключения свидетельствует и тот факт, что тропность гидазепама к

бензодиазепиновым рецепторам (таблица), в результате которого происходит биологический ответ, значительно меньше, чем у метаболитов, что также согласуется с их значениями $\log P$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андронати С.А., Воронина Т.А., Головенко Н.Я. Гидазепам.- К: Наукова думка, 1992. — 195 с.
2. Головенко М.Я., Борисюк І.Ю., Преподобна К.В. Біотрансформація лікарських засобів // Одеський мед. ж. — 2006. — № 10(3). — С. 10 — 15.
3. Головенко М.Я., Громов Л.О. Доклінічне вивчення специфічної активності потенційних протисудомних препаратів. Методичні рекомендації.- Київ, 2003. — 26 с.
4. Porter R. G. Epilepsy: 100 elementary principles. 2nd ed. Saunders, 1989.—436 p.
5. Биофизика. /Под ред. П. Г. Костюк.- К.: Вища школа, 1988.-504 с.
6. Zhuk O.V., Zinkovski V.G., Golovenko N.Ya. et. al. Biokinetics of gidazepam, derivatives of peptieaminobenzoppenones and their metabolites // Exp. Toxic. Pathol.- 1999. — 51. — P. 187 — 190.
7. Головенко Н.Я. Механизмы реак-
- ций метаболизма ксенобиотиков в биологических мембранах.- К.: Наук. думка, 1981. — 220 с.
8. Testa B., Jenner P. Novel drug metabolites produced by fictionalization reactions: chemistry and toxicology // Drug Metab. Revs.- 1978. — 7. — № 2. — P. 325 — 369.

М.Я Головенко, Е.В Преподобна

N. Ya Golovenko, E. V. Prepodobnya

ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГІДАЗЕПАМУ ТА ЙОГО МЕТАБОЛІТІВ

Встановлена величина (ED_{50}) протисудомної дії гідазепаму та його метаболітів на моделі коразолового тесту й осередкової епілепсії, викликаній аплікацією коразолу на кору головного мозку щурам. Розрахована летальна доза (LD_{50}) гідазепаму та його метаболітів. Було досліджено вклад кожного з метаболітів в загальну картину фармако-токсикологічних властивостей гідазепаму.

Отримані дані свідчать, що фармако-токсикологічна дія гідазепаму може досягатися за рахунок двох його метаболітів, а саме дезалкілгідазепаму та 3-оксидезалкілгідазепаму, які утворюються в процесах N^1 -деалкілювання та C^3 -гідроксилювання.

PHARMACO-TOXICOLOGICAL CHARACTERIS- TIC OF GIDAZEPAM AND ITS METABOLITES

The established size (ED_{50}) anticonvulsant actions of gidazepam and its metabolites on model anticorazoles test and focal epilepsy, with was caused application of corazol on the rats brain. Also in work was calculated lethal doze (LD_{50}) of this drugs. Have been contributioned of each metabolites in the general picture of pharmaco-toxicological properties of gidazepam had been investigated.

Ordered results specify, that pharmaco-toxicological action of gidazepam can be achieved due to two metabolites of it's, namely deazalcilgidazepam and 3-hydroxideazalcilgidazepam, they are generating in the processes of the N^1 -dealkylations and C^3 -gidroxylation.